

## ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

LIFE CYCLE AND BIOTIC POTENTIAL OF *FASCIOLA HEPATICA* IN *GALBA TRUNCATULA*

CICLO BIOLÓGICO Y POTENCIAL BIÓTICO DE *FASCIOLA HEPATICA* EN *GALBA TRUNCATULA*

Paul Iturbe-Espinoza<sup>1,2</sup> & Flavia Muñoz-Pareja<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Biológicas. Centro de Investigaciones Parasitológicas Regionales Inka-CIPRI Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco  
Av. La Cultura 733 Cusco

<sup>2</sup> iturbe555@hotmail.com, <sup>3</sup> fmpegog@yahoo.es

Suggested citation: Iturbe-Espinoza, P & Muñoz-Pareja, F. 2013. Life cycle and biotic potential of *Fasciola hepatica* in *Galba truncatula*. Neotropical Helminthology, vol. 7, n<sup>o</sup>2, jul-dec, pp. 243 - 254.

### Abstract

*Fasciola hepatica* has a complex life cycle that includes a limnid snail as an intermediate host, where larval parthenogenetic multiplication occurs. We performed an experimental study of the life cycle of *F. hepatica* and estimated its potential biotic (r) in *Galba truncatula*. We selected 215 of these snails, and infected them with miracidia obtained at 26 ° C in the presence of light. We proceeded to dissect five snails every three days. By tracking the number of stages of *F. hepatica* by light microscopy observing external characteristics and development time of miracidia, sporocyst, rediae, and cercariae. We noted that the exponential growth model is best suited to the dynamics of *F. hepatica*. With a biotic potential of 6.69%, an average of 203 cercariae per miracidium and 270 cercariae per snail.

**Keywords:** biotic potential - cercariae - *Fasciola hepatica* - *Galba truncatula* - life cycle - miracidia - rediae.

### Resumen

*Fasciola hepatica* tiene un ciclo biológico complejo, que incluye un caracol limneido como intermediario, donde acontece su multiplicación larval partenogenética. Se realizó por ello un estudio experimental del ciclo de *F. hepatica* y se estimó su potencial biótico (r) en *Galba truncatula*. Habiendo seleccionado 215 de estos caracoles para su infección con miracidios obtenidos a 26°C, en presencia de luz; se procedió a la disección de cinco caracoles cada tres días, realizando el seguimiento de la cuantía de estadíos de *F. hepatica* mediante microscopía de campo claro, observando características externas y tiempo de desarrollo de miracidios, esporocisto, redias y cercarias. Resultando que el modelo de crecimiento exponencial es el que mejor se ajusta a la dinámica de *F. hepatica*, con un potencial biótico de 6,69%, una media de 203 cercarias por miracidio y 270 cercarias por caracol.

**Palabras claves:** cercaria - ciclo biológico - *Galba truncatula* - *Fasciola hepatica* - miracidio - potencial biótico - redia.

## INTRODUCCIÓN

El potencial biótico ( $r$ ) es la capacidad intrínseca de reproducción de cada especie y depende de propiedades fisiológicas y genéticas determinadas (Morlans, 2004). Siendo interesante conocer el potencial biótico de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) en condiciones controladas de laboratorio.

Se tiene la experiencia que a temperatura constante de 26°C y en presencia de luz, la eclosión de miracidios se produce en 12 días (Iturbe & Muñiz, 2010).

Carrada (2007) afirma que el miracidio penetra al hepatopáncreas mediante acciones histolíticas y mecánicas. Los tejidos del caracol en las proximidades directas de la región apical del miracidio son disueltos (Dalton, 1999), despojándose de sus placas epiteliales para transformarse en un esporocisto madre de 500  $\mu\text{m}$  (Carrada, 2007) que contiene un número fijo de células germinales (Ginetsinskaya, 1988). El esporocisto se reproduce asexualmente por división mitótica a partir de su pared formando de 5 a 10 masas germinativas que se convierten en la primera generación de redias, las cuales se liberan por rompimiento de las paredes del cuerpo que aniquila al esporocisto (Ginetsinskaya, 1988), que a su vez originaran a la segunda generación de redias, que maduras miden en promedio 3 mm (Carrada, 2007). Este proceso de poliembrionía suele tener generalmente dos generaciones que duran de 25 a 35 días, regulado por la temperatura ambiental (Carrada, 2007). Aunque puede ocurrir un periodo de hibernación si las condiciones medioambientales son desfavorables, estando el caracol en diapausa, se prolonga el periodo de emergencia de las cercarias (Rojo & Ferre, 1999), fenómeno de gran interés epidemiológico. Trabajos realizados al respecto indican la existencia de hasta cuatro generaciones de redias, siendo las tres primeras bipotenciales: rediógenas y cercariógena (con capacidad de producción de redias y cercarias respectivamente) y la cuarta generación unipotencial cercariógena (Ordoñez, 2009).

La cercaria de *F. hepatica* es leptocerca (cauda

simple) y gymnocephala (Nasir, 1988; Fried, 1997), Las cercarias de *F. hepatica* que salen de la redia no están aún maduras por lo que entran al hemocele del caracol (Ginetsinskaya, 1988) para acumular glicógeno de este tejido (Dalton, 1999). Las cercarias emergen después de que el proceso de acumulación de glicógeno se complete en 11 días (Ginetsinskaya, 1988). Las cercarias, abandonan a las redias a partir de su apertura tocológica y al caracol por su aparato respiratorio (Quiroz, 2003). Regularmente, las cercarias emergen entre los 38 a 45 días según Becerril & Romero (2004), después de 42 a 56 días de infección según Quiroz (2003), y según Lee *et al.* (1995) la emergencia de cercarias puede ocurrir a los 27 días post-infección. El número de cercarias liberadas no tiene una distribución uniforme durante el día (Ginetsinskaya, 1988). La temperatura, la humedad, el estado de nutrición y edad del caracol intervienen en la evolución de la descendencia de *F. hepatica*, así como cuando se encuentra en depósitos acuáticos ricos en algas que en medios secos, fríos y en arroyos claros (Quiroz, 2003).

Las cercarias originadas a partir de un miracidio pueden llegar a 600 según Quiroz (2003), entre 500 a 650 según Becerril & Romero (2004) y por caracol entre 100 a 4000, siendo el número frecuente 100 (Becerril & Romero, 2004). Las cercarias liberadas por los caracoles se dirigen rápidamente a la superficie del agua (Nasir, 1988), presentan fototactismo positivo y geotactismo negativo (Ginetsinskaya, 1988). Las cercarias se enquistan envolviéndose en una cubierta polimérica de quinonas y otras sustancias mucilaginosas (Carrada, 2007) en vegetales como el berro o en el agua donde pierden la cauda transformándose en metacercarias, usando secreciones de sus glándulas cistógenas (Fried, 1997), que a las 24 h de haber enquistado, es infectiva y puede resistir hasta un año en buenas condiciones de humedad y temperatura (Ginetsinskaya, 1988; Alcaino & Apt, 1989) siendo muy sensibles a la desecación y temperaturas altas, pero soportan temperaturas bajas, posibilitando así la supervivencia

invernal. Tomando en cuenta estos aspectos se realizó un estudio experimental del ciclo de *F. hepatica*, proveyéndole como hospedero intermediario a *Galba truncatula* (Müller, 1774) obtenidos de su medio natural, para estimar el potencial biótico de *F. hepatica* observando el desarrollo y propagación de sus estadios larvales dentro de su hospedador intermediario en condiciones controladas de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los caracoles *G. truncatula* (identificados por Jean Pierre Pointier) procedieron del arroyo Rumitabla ubicado 13° 32' 21.9" LS, 71° 52' 15,6" LW y 3324 m de altitud en San Jerónimo, (Cusco-Perú), habiendo sido mantenidos en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad San Antonio Abad de Cusco, Perú. Se consideró a *G. truncatula* población infinita. Se evaluó a un nivel de confianza del 95%,  $Z = 1,96$ , precisión de 3%, y un índice de infección experimental de *L. viatrix* (Orbigny 1835) por *F. hepatica* de 70% de acuerdo a Larrea *et al.* (2007), estimado en 215 caracoles.

Para la obtención de miracidios se siguió la metodología utilizada por Iturbe & Muñiz (2010). Los miracidios fueron distribuidos en número de cinco en cada pocillo (Num maxisorp de multiplacas de ELISA), donde se pusieron en contacto con los caracoles durante dos h, induciendo así la infección, luego los caracoles fueron mantenidos en otro acuario en las condiciones del ambiente del laboratorio, mensurando la humedad - temperatura con termo-higrómetro digital, habiéndose mantenido a una temperatura máxima de 22,7 °C, y mínima de 16,7 °C, humedad relativa promedio de 53%, temperatura en el agua de  $16,6 \pm 1^\circ\text{C}$ , disponiendo de iluminación natural que ingresa por las ventanas del laboratorio, con fotoperiodo de 12 h, y exposición a 3 h de luz solar directa.

Los caracoles inoculados con miracidios de *F. hepatica*, cada tres días, y a la misma h, uno a uno fueron diseccionados en grupos de cinco,

bajo un microscopio estereoscópico, utilizando el método descrito por Olazabal *et al.* (1999). Se observó al estereoscopio y al microscopio de campo claro, la morfología de esporocistos, redias, cercarias y metacercarias de *F. hepatica*, con especial interés en el hepatopáncreas, riñón y gónadas. Con la cuantía del número de todos los estadios larvarios de *F. hepatica*, se estimó la función matemática de crecimiento poblacional y el potencial biótico "r" (Morlans, 2004). Datos cuantitativos y cualitativos fueron almacenados en el programa Microsoft Office Excel 2007, utilizando el software Curve Expert, versión 1,4. para la interpolación de puntos de la curva de crecimiento obtenido.

## RESULTADOS

### Miracidio

Mediante microscopía de campo claro se observó algunas características anatómicas externas del miracidio como su forma ovoide, la presencia de cilios alrededor de su cuerpo, su terebratorium y sus placas oculares (Figs. 1), estas larvas aproximadamente a las 12 h después de eclosionar perecieron.

### Esporocistos

A los tres días post-infección de los caracoles, se observó a microscopía: Esporocistos en sus diferentes tejidos, cuyos tamaños y formas son aún similares al de los miracidios, más la conservación de su terebratorium, placas oculares aun distinguibles y la pérdida parcial de sus cilios (Fig. 2). A los seis días post-infección, los esporocistos fueron observados en el hepatopáncreas del caracol, estos duplicaron su tamaño, con escasos cilios distinguibles alrededor de su terebratorium, asumiendo formas más circulares y careciendo de manchas oculares. A los nueve días post-infección los esporocistos, situados en el hepatopáncreas y/o también en las células renales y corazón del caracol, incrementan su tamaño, conteniendo células germinales en su interior que darán origen a elementos larvales posteriores mejor diferenciados, que conservan todavía distinguibles sus terebratoriums, pero no sus placas oculares; sin embargo, todavía presentan

cilios que poseen movimientos vibratorios en su parte anterior, alrededor de su terebratorium. A los 12 días post-infección, los esporocistos se alargan, perdiendo sus cilios completamente y sus órganos perforadores ya no son visibles en el microscopio biológico de campo claro. A los 15 días post-infección, los esporocistos ya son maduros, grávidos, alargados y de formas irregulares. A los 18 días post-infección se observa que los esporocistos originan la primera generación de redias, las cuales se liberan por rompimiento de las paredes del cuerpo que los contiene por la presión que internamente ejercen (Fig. 3). Estas redias de primera generación aun no son reconocibles y sólo se observan células germinales libres que inician su diferenciación.

#### Redias

A los 21 días post infección, las células germinales continúan su diferenciación a redias libres de primera generación, las cuales se distinguen por desarrollar un aparato bucal y un esófago, distinguible por la presencia de dos grandes células reniformes (Fig.3). A los 24 días post infección se observa el crecimiento acelerado de redias, que presentando un par de pseudópodos anteriores en leve desarrollo y un par de pseudópodos posteriores como órganos auxiliares de locomoción, entre las células renales del caracol. A los 27 días post-infección las redias de primera generación son distinguibles por su desarrollado aparato bucal y pseudópodos. Al día 30 post-infección algunas redias de primera generación se desgarran en sus paredes y liberan a redias de segunda generación que aún son células germinales. Al día 33 post-infección se observó que estas células germinales inician su diferenciación en redias de segunda generación también desarrollando un aparato bucal.

A los 36 días post infección se apreció redias de segunda generación, que rápidamente aumentan de tamaño, tienen una ventosa anterior oral bien desarrollada, con saco intestinal rudimentario oscuro, con un par de pseudópodos y otro par cerca a la porción terminal (Fig. 4).

Hasta aproximadamente el 51 día post-infección, las redias de segunda generación

continúan aumentando de tamaño, al igual que sus células germinales, destacándose el rudimento intestinal oscuro.

#### Cercarias

A los 54 días post-infección se observan las primeras cercarias que emergieron de las redias de segunda generación; sin embargo, aun no están maduras por lo que sus caudas no tienen movimiento. A los 57 días post-infección aún la mayoría de redias de segunda generación mantienen sus embriones inmaduros, pero se incrementan ejemplares precoces de cercarias maduras que nadan libres. Los subsiguientes días los embriones de cercarias adquieren un color oscuro, y las cercarias libres que van nadando enérgicamente, gracias a su cauda desarrollada, mostrando su típicas ventosas y ciegos intestinales (Fig. 5). Del día 63 al 72 post-infección, se observa un aumento vertiginoso en el número de cercarias maduras, que exhiben en conjunto un movimiento vibratorio al mover sus caudas al mismo tiempo que en aproximadamente una h después de liberadas intentan enquistar a metacercarias perdiendo la cauda.

Los días 78 y 81 post-infección, se observan pequeñas redias de tercera generación, en menor tamaño y número, el número de cercarias dentro del caracol disminuye, debido a estas larvas inician sus salidas al ambiente para poder enquistar a metacercaria (Fig. 6) y continuar con su ciclo biológico.

Durante la disección de 25 primeros caracoles, mostraron un promedio de 1,47 miracidios exitosos en penetrar al caracol. En 40 caracoles se observó la mayor cantidad de redias de primera generación con un promedio de 11,25 por caracol. En 65 caracoles diseccionados, se obtuvo un promedio de 103 redias de segunda generación por caracol. Fluctuando la mortandad entre 9 a 17 caracoles por disección. Desde los 57 días post-infección hasta los 81 días post-infección, se observaron 4252 cercarias, en los 45 caracoles diseccionados. A los 72 días post infección se observó la mayor cantidad de cercarias en los caracoles con un promedio de 270 cercarias por caracol (Tabla 1)

**Tabla 1.** Cuantía de estadios larvales de *Fasciola hepatica* en función de días post-infección (los valores se muestran con la media  $\pm$  el error estándar y el rango).

Días post-infección	Larvas de <i>F. hepatica</i>				Total de larvas
	Miracidios/Esporocistos	Redias 1	Redias 2	Cercarias/Metacercarias	
3	1,3 $\pm$ 0,33 (1-2)	-	-	-	1,33
6	1 $\pm$ 0 (1-1)	-	-	-	1
9	1 $\pm$ 0 (1-1)	-	-	-	1
12	2,5 $\pm$ 0 (1-4)	-	-	-	2,50
15	1,5 $\pm$ 0 (1-2)	-	-	-	1,50
18	-	4,75 $\pm$ 0,63 (3-6)	-	-	4,75
21	-	5 $\pm$ 1,58, (1-9)	-	-	5
24	-	5.02 $\pm$ 0,74 (3-7)	-	-	5,2
27	-	8,2 $\pm$ 2,39 (3-17)	-	-	8,2
30	-	11,25 $\pm$ 5 (6-14)	-	-	11,25
33	-	6 $\pm$ 0,5 (1-16)	16, $\pm$ 0 (15-17)	-	22
36	-	5 $\pm$ 0 (3-7)	30, $\pm$ 8,56 (9-51)	-	35
39	-	1,5 $\pm$ 0 (1-2)	45, $\pm$ 2,16 (39-49)	-	46,50
42	-	-	47,3 $\pm$ 8.2(31-57)	-	47,33
45	-	-	65,33 $\pm$ 21,17(24-94)	-	65,33
48	-	-	70 $\pm$ 3,03 (62-80)	-	70
51	-	-	77,33 $\pm$ 18,9(47-112)	-	77,33
54	-	-	103,00 $\pm$ 3.6(96-108)	-	103
57	-	-	98,50 $\pm$ 0 (98-99)	11 $\pm$ 0 (10-12)	109,5
60	-	-	85,50 $\pm$ 12,6(49-112)	30 $\pm$ 8,57 (9-51)	115,5
63	-	-	22,25 $\pm$ 2,02 (18-28)	110,25 $\pm$ 21.02(68-160)	132,5
66	-	-	17 $\pm$ 1.7 (14-20)	156,33 $\pm$ 23,31(110-184)	173,33
69	-	-	10,67 $\pm$ 0,33 (10-11)	267,67 $\pm$ 8,45 (252-281)	278,33
72	-	-	-	270 $\pm$ 3,03 (262-280)	270
75	-	-	-	190,33 $\pm$ 11,3(170-209)	190,33
78	-	-	-	99 $\pm$ 1,53 (97-102)	99
81	-	-	-	59,6 $\pm$ 8 (48-75)	59,67

y unas pocas pequeñas redias de tercera generación, después del día 81, los caracoles restantes perecieron. En este intervalo de análisis se encontraron 11 caracoles muertos en el acuario.

#### Curva de crecimiento de *F. hepatica*

Para calcular la curva de crecimiento de *F. hepatica* fueron utilizados los promedios de cada estadio cuantificados en la Tabla 1. Se ha representando mediante un gráfico de puntos el crecimiento del número de larvas de *F. hepatica* en función de los días de infección en el caracol hospedador. El modelo de crecimiento exponencial es el mejor ajustado a la dinámica de *F. hepatica*, comprendido entre los 3 y 69 días post-infección del caracol, que se caracteriza por una aceleración del crecimiento de la población y cuya función es del tipo:  $N_t = N_0 e^{rt}$  representado por el tamaño de la población al inicio ( $N_0$ ), una tasa intrínseca de crecimiento ( $r$ ), un tiempo de retardo ( $t$ ) y una población al final ( $N_t$ ). Mediante una transformación lineal, se tomaron los logaritmos neperianos, para convertir el problema en una cuestión de regresión lineal:  $\ln(N_t) = rt + \ln(N_0)$ . Usando esta forma lineal de la regresión exponencial se obtuvo la ecuación final que modela el sistema:  $N_t = 2,3965 e^{0,06693 t}$ , que presenta un coeficiente de precisión de la curva  $R^2 = 0,98 \pm 12,81$ , que fue estadísticamente significativo en relación a la interpolación de puntos. Con la aplicación de esta función exponencial, se puede inferir la cantidad de larvas de *F. hepatica* para cualquiera de los días post-infección.

#### Potencial biótico

El potencial biótico ( $r$ ) de *F. hepatica*, para una población inicial  $N_0 = 2,3965$  de miracidios, obtuvo un potencial biótico  $r = 6,69$  % por día. Tomando en consideración los datos de la Tabla 1, se infiere que la producción neta de cercarias por miracidio exitoso en evolucionar a esporocisto es de 203 cercarias en este modelo experimental ejecutado.

El modelo exponencial resultante está compuesto por cuatro fases diferenciadas. La primera presenta un carácter casi lineal y

representa el número de esporocistos; mientras que, la segunda fase, muestra un aumento en el crecimiento, representado por la generación de redias de primera generación; en la tercera fase el crecimiento se hace mayor, representado por la multiplicación de redias de segunda generación; y en la última fase el crecimiento es vertiginoso, representado por la generación de cercarias. La transición que tiene lugar entre las cuatro fases de crecimiento se denominan punto de inflexión de la curva, siendo necesario realizar las curvas de crecimiento entre estos puntos individualmente:

El crecimiento del número de redias de primera generación de *F. hepatica* del 15 a 30 día post-infección, se puede expresar mediante la ecuación  $N_t = N_0 e^{rt}$ , los valores de sus coeficientes constantes son:  $N_0 = 2,1804$  y  $r = 0,1097$ , el error estándar de la curva es de 1,4805 y su coeficiente de determinación de  $r^2 = 0,93$ . Luego de los cuales la población empieza a decrecer.

El crecimiento del número de redias de segunda generación de *F. hepatica* desde el día 30 hasta el 54 post-infección, se puede expresar mediante la ecuación  $N_t = N_0 e^{rt}$ , los valores de sus coeficientes constantes son:  $N_0 = 18,6306$  y  $r = 0,0718$ , el error estándar de la curva es de 9,7486 y su coeficiente de correlación  $R^2 = 0,95$ . Luego de los cuales la población empieza a decrecer.

El crecimiento del número de cercarias de *F. hepatica* desde el día 54 hasta el 69 post-infección, se puede expresar mediante la ecuación  $N_t = N_0 e^{rt}$ , los valores de sus coeficientes constantes son:  $N_0 = 29,4370$  y  $r = 0,1304$ . El error estándar de la curva es de 41,3448 y su coeficiente de determinación de  $r^2 = 0,9451$ . Luego del cual, la población de larvas dentro del caracol empieza a decrecer debido a la emergencia de las cercarias para continuar su ciclo vital.

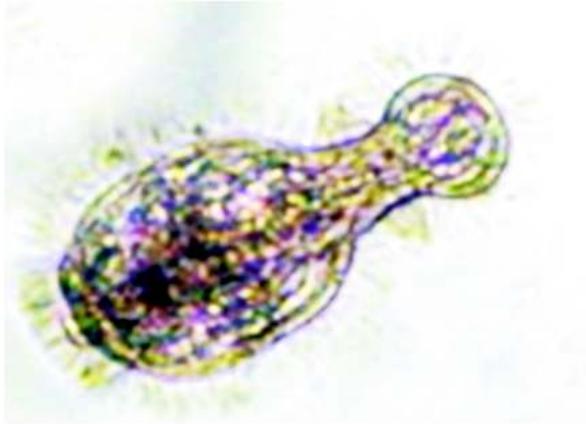


Figura 1. Miracidio de *Fasciola hepatica* en agua a 640 X.



Figura 2. Esporcisto de *Fasciola hepatica*, 400X.

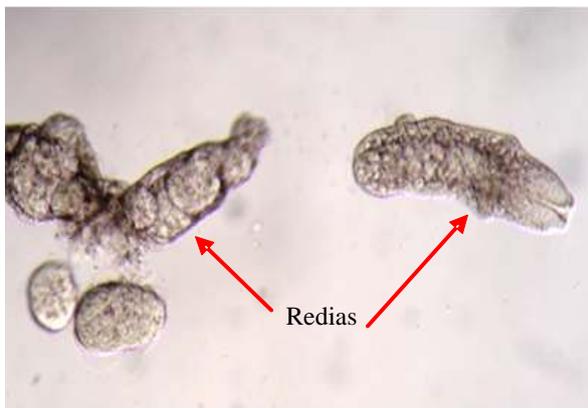


Figura 3. Esporcisto desgarrado y redia de primera generación de *Fasciola hepatica*, 100X.

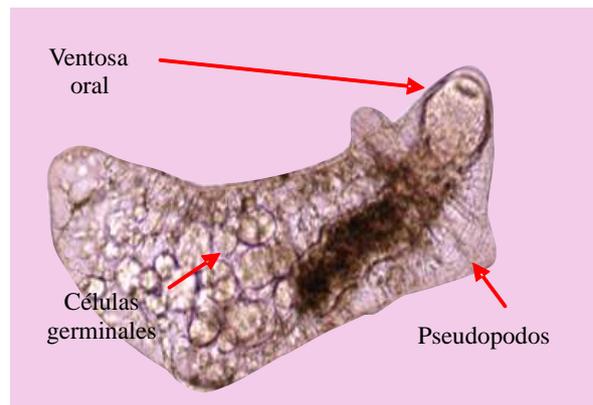


Figura 4. Redia de segunda generación de *Fasciola hepatica*, 100X.



Figura 5. Cercarias maduras de *Fasciola hepatica*, 40X.



Figura 6. Metacercaria de *Fasciola hepatica*, 400X.

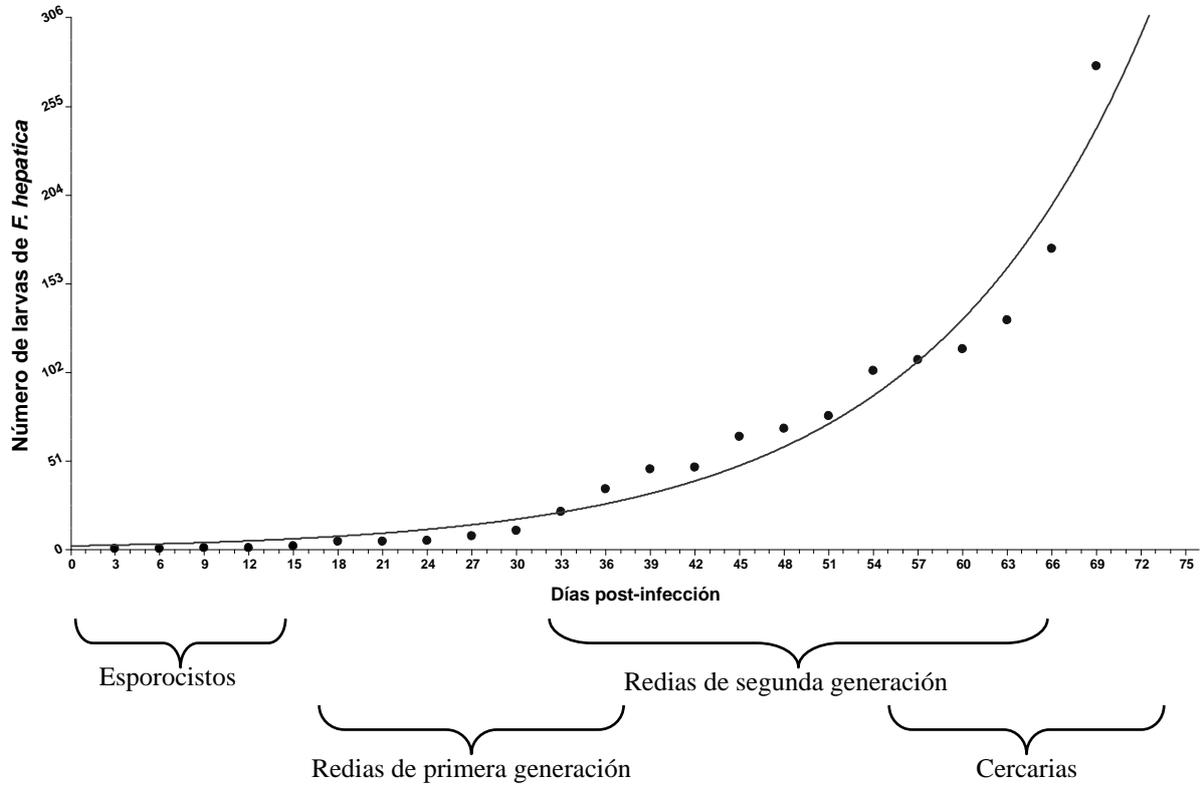


Figura 7. Interpolación de puntos de la multiplicación partenogénica de larvas de *Fasciola hepatica*, en el modelo de crecimiento exponencial en *Galba truncatula*.

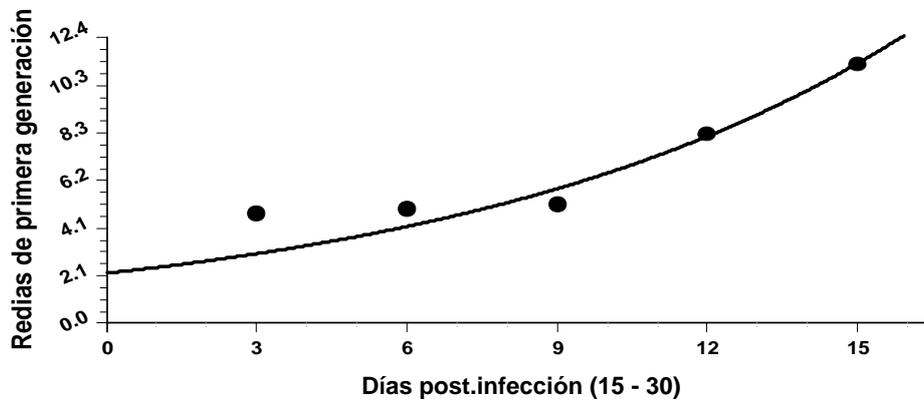


Figura 8. Crecimiento de redias de primera generación de *Fasciola hepatica* en *Galba truncatula*.

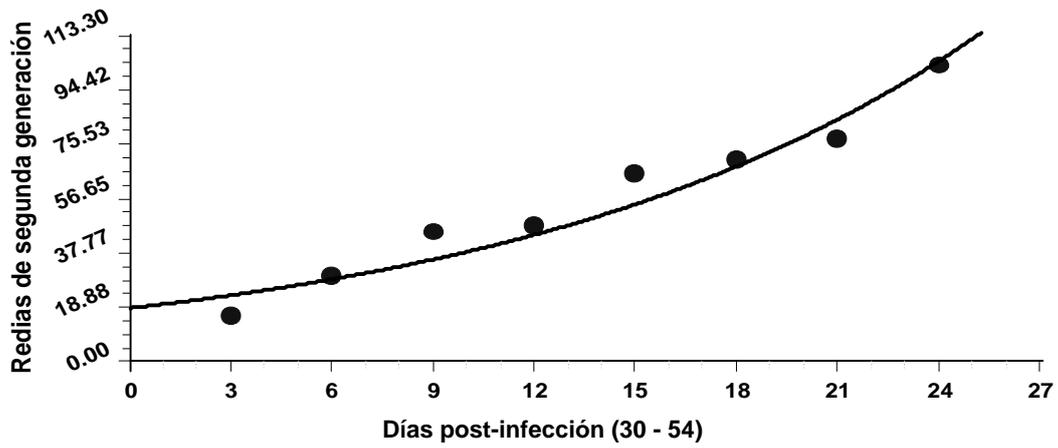


Figura 9. Crecimiento de redias de segunda generación de *Fasciola hepatica* en *Galba truncatula*

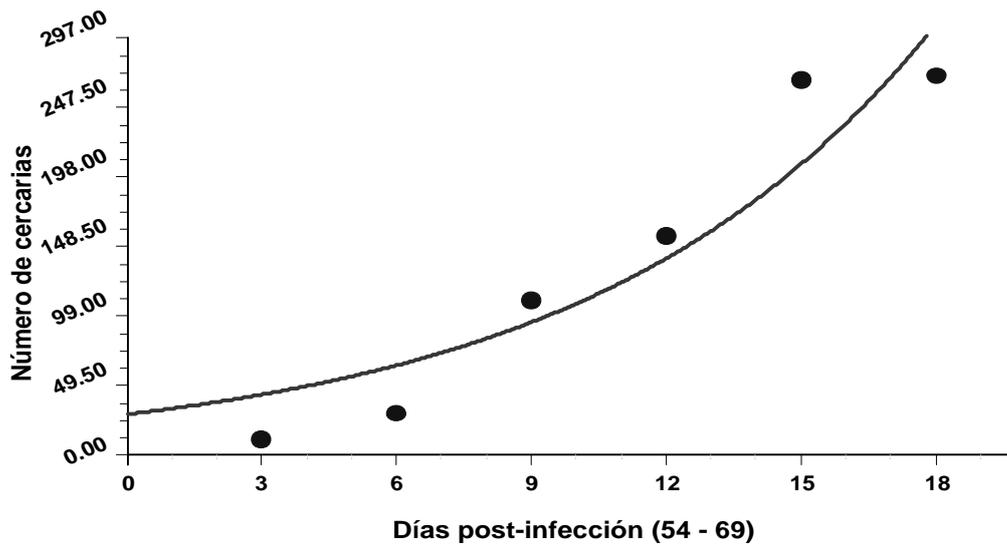


Figura 10. Crecimiento de cercarias de *Fasciola hepatica* en *Galba truncatula*.

## DISCUSIÓN

En la presente investigación se reconfirmó que los huevos de *F. hepatica* incubados en presencia de luz a 26°C, desarrollan a los 11 días, eclosionando los miracidios, resultado próximo al de Quiroz (2003) que indica nueve días a la misma temperatura. Entre las características que se observaron a microscopía del miracidio están el epitelio cubierto por largos cilios, un terebratorium en su parte anterior, que concuerdan con lo observado por Koie *et al.* (1976), observándose además un par de placas fotosintéticas indicadas por Quiroz (2003), Euzéby (2001), Athías (1999), Cordero del Campillo *et al.* (1999) y Thomas & Leukart (1986) (Fig 1).

A los 15 días post-infección se observó que el esporocisto por partenogénesis origina redias, que se liberan rompiendo las paredes que los contienen, como indica Ginetsinskaya (1988), quien además indica que a partir de la pared se forman de 5 a 10 masas germinativas que se convierten en redias germinales, en el presente diseño experimental, se calculó un promedio de 11,25 redias de primera generación por cada esporocisto, Aunque Rondelaud & Barthe (1987), mencionan que la productividad del esporocisto, medido por el número de redias y el número de cercarias en una redia, es relativo al tamaño de los caracoles infectados.

Dalton (1999) indica que cada generación de redias está compuesta de cohortes por ejemplo: primera, segunda, tercera, etc. Mediante las condiciones controladas del laboratorio, se pudo observar mayoritariamente sólo dos generaciones, y escasas pequeñas redias de tercera generación, después del día 81 post-infección.

El período prepatente (antes de la emergencia de cercarias), duró entre los días 54 y 57 días post-infección, y es considerado estándar cuando es comparado con estudios similares en los que se señala 48 a 58 días (Mas-coma *et al.*, 2001) en laboratorio, con material biológico procedente del Altiplano boliviano; y Rondelaud & Barthe (1987), en caracoles *L. truncatula* (=Galba

*truncatula*) al ambiente, en Europa. Sin embargo Carrada (2007) en México, indica que el proceso de poliembrionía suele tener generalmente dos generaciones que duran de 25 a 35 días y está regulada por la temperatura ambiental, afirmación coincidente con lo indicado por Lee *et al.* (1995), quien asevera que la producción total de metacercarias en caracoles *L. viridis* es influenciada por la temperatura durante la infección, indicando que la liberación de cercarias se inicia al día 27 post-infección y los caracoles infectados con tres o cinco miracidios producen más metacercarias que los infectados con un solo miracidio, en contraste la liberación de cercarias en este estudio se dio a los 54 días post-infección, sin embargo se observó que las primeras cercarias aun no estaban maduras teniendo a sus caudas sin propulsión. A los 57 días post-infección se observó mayor cantidad de cercarias maduras libres, que tienen la capacidad de poder nadar, aunque la mayoría de redias de segunda generación mantienen sus embriones aun inmaduros, este retardo en la emergencia de cercarias podría deberse a las condiciones ambientales diferentes en la que los caracoles fueron mantenidos, referidos a temperatura, humedad y presión atmosférica, considerando lo que indica Mas-coma *et al.* (2001) como estrategias asociadas a la adaptación a condiciones de altura. Las especies europeas de limneidos como *G. truncatula*, tienen un periodo de vida post-infección de 70 días (Rondelaud & Barthe, 1987; Mas-coma *et al.*, 2001) y en limneidos americanos hasta los 119 días para *L. viatrix* (Mas-coma *et al.*, 2001). En el presente estudio, los caracoles perecieron entre los 84 y 92 días después de la infección. Los caracoles mueren durante el periodo de liberación de cercarias, este periodo de emergencia es muy corto, Rondelaud & Barthe (1987) observaron a 102 caracoles el primer día, el número se redujo drásticamente a 56 en el segundo día y subsecuentemente decrece en el día 76 a 4 caracoles.

El potencial biótico es el valor máximo de crecimiento poblacional que se alcanza cuando las condiciones son óptimas para una población. *F. hepatica* es un parásito complejo y

“avanzado” (Carrada, 2007). El miracidio, encuentra la especie de limneido adecuada, e inicia una “explosión reproductiva” en cadena, es decir, las redias madres existentes dentro del esporocisto son liberadas y de inmediato comienzan a generarse las redias hijas. Finalmente, salen las cercarias bien diferenciadas (Becerril & Romero, 2004; Carrada, 2007). El modelo de crecimiento exponencial  $N_t = N_0 e^{rt}$  es el que mejor se ajustó a esta dinámica de *F. hepatica*, comprendido entre los 3 y 69 días post-infección del caracol en el presente diseño experimental, calculándose una producción media de 203 cercarias originadas por miracidio exitoso en infectar al caracol hospedador y 270 cercarias emitidas por caracol, similar a lo establecido por Dreyfuss & Rondelaud, (1994), que estiman 238,5 cercarias emitidas por caracol, indicando además que el número de cercarias emitidas es independiente del número de miracidios usados en la infección por caracol, cercano a los indicado por Mascoma *et al.* (2001) quien calcula de 384 a 562 cercarias producidas por caracoles del norte altiplánico de Bolivia, siendo diferente en *L. cubensis* en la que Olazabal *et al.* (1999) obtiene 31,6 cercarias por caracol, Lee *et al.* (1995) encuentran en invasiones artificiales de *Lymnaea viridis* (Quoy & Gaimard, 1832) en Corea del Sur, un máximo de 1220 cercarias por miracidio a una temperatura de 20°C con una mortalidad de 42,2 % de caracoles, en los cuales los efectos patógenos de las larvas de *F. hepatica* implican cambios histopatológicos incrementando el metabolismo a causa de que las reservas de glicógeno en las glándulas digestivas y musculares del pie del caracol se reducen. Destruyendo también el tejido conectivo y de las glándulas digestivas (Preveraud-Sindou *et al.*, 1994), y la destrucción del sistema reproductivo asociado con una atrofia temporal de glándulas reproductivas.

Se concluye que el modelo de crecimiento exponencial es el que mejor se ajusta a la dinámica de *F. hepatica* en el limneido *G. truncatula*; siendo su potencial biótico  $r = 6,6932\%$  por día; se sugiere tomar el diseño experimental de esta investigación con otras especies de limneidos de la región, para obtener

mayor información de la dinámica poblacional de *F. hepatica*; de la susceptibilidad de los caracoles a contraer la infección; obtener todos los estadios del ciclo biológico de *F. hepatica* en laboratorio y poder idear pruebas de control.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcaino, H & Apt W. 1989. *Algunos antecedentes sobre fasciolosis animal y humana* Monografías de Medicina Veterinaria, vol. 11, pp.14-29.
- Athías, A. 1999. *Parasitología clínica*. 3<sup>ra</sup> Ed. Mediterráneo. Santiago de Chile, Chile.
- Becerril, F & Romero, C. 2004. *Parasitología Médica*. Ed. Mc Graw Hill, México.
- Carrada, T. 2007. *F. hepatica; Ciclo biológico y potencial biológico*. Revista Mexicana de Patología Clínica, vol. 54, pp. 21-27.
- Cordero del Campillo, M, Rojo F, Martínez, A, Sánchez, C, Hernández, S, Navarrete, J, Díez, P, Quiroz, H & Carvalho M. 1999. *Parasitología Veterinaria*. Ed. Mc Grau Hill Interamericana. Madrid, España.
- Dalton, JP. 1999. *Fasciolosis*. Ed. CABI Publishing. Dublin City University, Republic of Irelands.
- Dreyfuss, G & Rondelaud, D. 1994. *Fasciola hepatica: a study of the shedding of cercariae from Lymnaea truncatula raised under constant conditions of temperature and photoperiod*. Parasite, vol.1, pp. 401-404.
- Euzéby, J. 2001. *Los parásitos de las carnes*. Ed. Acribia S.A., Zaragoza, España.
- Fried, B. 1997. *An overview of the biology of the Trematodes*, Ed. In Chief. CRC Pres, Boca Raton, Florida, EEUU. pp. 1-30.
- Ginetsinkaya, T. 1988. *Trematodes, their life cycles, biology and evolution*. Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi.
- Iturbe, P & Muñiz, F. 2010. *Desarrollo de huevos de Fasciola hepatica a partir de huevos aislados de la vesícula biliar de ovinos y vacunos, expuestos a luz y oscuridad*. Neotropical Helminthology, vol. 5, pp. 89-93.
- Koie, M., Christensen, N. O. & Nansen, P. 1976. *Stereoscan studies of eggs, free-swimming*

- and penetrating miracidia and early sporocysts of *F. hepatica*. *Parasitology Research*, vol. 51, pp. 79-90.
- Larrea, H, Flórez, M, Vivar, R, Huamán, P & Velásquez, P. 2007. *Hospederos intermediarios de F. hepatica en el Perú*. *Revista Horizonte Médico*, vol. 7, pp. 39-46.
- Lee, C, Cho, S & Lee, C. 1995. *Metacercarial production of Lymnaea viridis experimentally infected with F. hepatica*. *Parasitology Research*, vol. 58, pp. 313-318.
- Malek, E & Cheng, T. 1974. *Medical and economic malacology*. Academic Press, New York, U. S. A.
- Mas-Coma, S., Funatsu, I. & Bargues, M. 2001. *Fasciola hepatica and lymnaeid snails occurring at very high altitude in South America*. *Parasitology*, vol. 123, pp. 115-127.
- Morlans, MC. 2004. *Introducción a la ecología de poblaciones*. Área Ecología -Editorial Científica Universitaria - Universidad Nacional de Catamarca.
- Nasir, P. 1988. *British Freshwater Cercarie*. Universidad del Oriente. Cumana. Edo Sucre, Venezuela.
- Olazabal, E, Morales, A, Serrano, P & Brito, E. 1999. *Obtención de metacercarias de Fasciola hepatica en Lymnaea cubensis y relación parásito hospedero en ratas Wistar y ratones Balb/c*. *Revista Veterinaria de México*, vol. 30, pp 102-109.
- Ordoñez, D. 2009. *Fasciolosis crónica avanzada: análisis del desarrollo del parásito adulto y de la oviposición en el modelo experimental Wistar*. Tesis Doctoral, Departamento de Biología Celular i Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, España.
- Preveraud-Sindou, M, Dreyfuss, G & Rondelaud, D. 1994. *Comparison of the migrations of Fasciola hepatica sporocysts in Lymnaea truncatula and other related snail families*. *Parasitology Research*, vol. 80, pp. 342-345.
- Quiroz, H. 2003. *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. Ed. Limusa, España.
- Rojo, F & Ferré, I. 1999. *Parasitosis hepáticas en Parasitología Veterinaria* Ed. Mc Graw-Hill Interamericana Madrid.
- Rondelaud, D & Barthe, D. 1987. *F. hepatica L.: the productivity of a sporocyst as a function of the size of Lymnaea truncatula Muller*. *Parasitology Research*, vol. 74, pp. 155-160.
- Thomas, A & Leuckart, L. 1986. *Fasciolosis*, Ed. Elsevier, D. F. México.
- Wilford, O. 1977. *Parasitología Animal II*. 3<sup>ra</sup> Ed. University Park Press, Baltimore, Maryland, U.S.A.

Received October 31, 2012.

Accepted June 20, 2013.

Correspondence to author/ Autor para correspondencia:  
Paul Iturbe-Espinoza

Facultad de Ciencias Biológicas. Centro de Investigaciones Parasitológicas Regionales Inka-CIPRI Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco. Av. La Cultura 733 Cusco, Perú.

E-mail / Correo electrónico:  
iturbe555@hotmail.com